



TITLE:

苔類ゼニゴケの造精器および精子の発生過程を制御する機構の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

肥後, あすか

CITATION:

肥後, あすか. 苔類ゼニゴケの造精器および精子の発生過程を制御する機構の解析. 京都大学, 2016, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19868>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-03-01に公開

京都大学	博士（生命科学）	氏名	肥後あすか
論文題目	苔類ゼニゴケの造精器および精子の発生過程を制御する機構の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>有性生殖の成功は、遺伝的な多様性をもつ次世代を残すという点で、多くの生物にとって重要である。陸上植物は進化の過程で雄の配偶子を劇的に変化させた。コケ植物、小葉類、シダ類、および一部の裸子植物は、鞭毛を有し運動能を持つ精細胞を形成するが、被子植物や多くの裸子植物は、花粉管により卵細胞まで運ばれる運動能を持たない精細胞を形成する。運動能を持たない精細胞の発生過程を制御する分子機構は、被子植物のモデル植物であるシロイヌナズナやイネを用いた研究により明らかにされてきた。一方で、進化的に基部に位置する植物の行う鞭毛を持ち運動能を有する精子の発生過程を制御する分子機構に関する知見は、解析に適したモデル植物がなかったために、これまでほとんど得られていない。申請者は、近年分子細胞生物学のための基盤が整いつつある苔類ゼニゴケを用いて、雄性生殖器官（造精器）および雄性配偶子（精子）の発生過程を制御する機構の解明を目指して研究をおこなった。</p> <p>第 1 章では、ゼニゴケの造精器および精子の分化過程に関わる遺伝子の同定と、これらの過程における遺伝子発現の枠組みを明らかにすることを目的として、RNA sequencing によるトランスクリプトーム解析をおこなった。発生途中の造精器、栄養成長期の葉状体、成熟した雄器床、成熟した雌器床の 4 種類の配偶体組織でトランスクリプトームを比較し、造精器で高発現する遺伝子を探索した。Gene Ontology 解析により、発生途中の造精器で高発現する 731 個の遺伝子には、細胞周期、有性生殖、およびエピジェネティックな遺伝子発現制御に関与すると考えられる遺伝子が濃縮されていることが明らかになった。また、ゼニゴケの造精器で高発現する遺伝子には、被子植物の雄原細胞や精細胞で特異的に発現して精細胞の分化に関わる遺伝子や、動物の精子変態過程に関わる遺伝子の相同遺伝子が多数含まれていた。さらに、RNA in situ hybridization 法による解析の結果、鞭毛構成蛋白質の遺伝子が精細胞で一過的に発現し、その後に、精細胞核の凝集に関与すると考えられるプロタミン様蛋白質をコードする MpPROTAMINE-LIKE 遺伝子が発現することが示された。以上から、造精器と精子の分化に関わる候補遺伝子が多数同定されるとともに、ゼニゴケの雄性配偶子形成過程は動物および被子植物のそれと共通した特徴を持つことが示唆された。また、精子分化に関わる遺伝子が精母細胞の分裂により精細胞が生じた後の短い時期に発現することが示唆された。</p> <p>第 2 章では、第 1 章で同定した造精器で高発現する転写因子遺伝子のうちで、シロイヌナズナの精細胞の分化に重要な DUO POLLEN1 (DUO1) のオルソログである MpDUO1 の発現パターンと機能を解析した。RNA in situ hybridization 法とレポーター系統の解析により、MpDUO1 は精細胞の分化の前後で特異的に発現することが示された。MpDUO1 ノックアウト株 (Mpduo1-1^{ko}株) の精細胞の透過型電子顕微鏡観察と Feulgen 染色による核形態の解析から、MpDUO1 は精細胞のスプラインや鞭毛の構築、精細胞核の凝集に関与することが示唆された。また、リアルタイム RT-PCR 法や RNA in situ hybridization 法による解析から、MpDUO1 は、DUO1 と同様に、転写因子 DAZ (MpDAZ) の発現を制御することが示された。一方で、シロイヌナズナの duo1 変異体とは異なり、Mpduo1-1^{ko}株では、精母細胞の等分裂による精細胞の形成は野生型と同様に起こり、受精時の精細胞の卵への接着と融合に関わる遺伝子の発現の顕著な低下は見られなかった。以上から、DUO 1 は、苔類ゼニゴケおよび被子植物シロイヌナズナにおいて精細胞の分化の前後で発現し、精細胞の分化に必須であるという共通点を持つが、DUO1 の下流に位置づけられる諸経路は、進化の過程で変化してきたことが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、近年分子細胞生物学のための基盤が整いつつある苔類ゼニゴケを用いて、基部陸上植物における雄性生殖器官（造精器）と雄性配偶子（精子）の発生過程を制御する機構の解明を目指して研究をおこなった。

申請者はまず、ゼニゴケの造精器および精子の分化過程に関わる遺伝子の同定と、これらの過程における遺伝子発現の枠組みを明らかにすることを目的として、トランスクリプトーム解析をおこなった。発生途中の造精器を含む4種類の配偶体組織間でトランスクリプトームを比較し、造精器で高発現する731個の遺伝子を見いだした。Gene Ontology解析により、それらの中には細胞周期、有性生殖、およびエピジェネティックな遺伝子発現制御に関与すると考えられる遺伝子が濃縮されていることを明らかにした。また、ゼニゴケの造精器で高発現する遺伝子には、被子植物の雄原細胞や精細胞で特異的に発現して精細胞の分化に関わる遺伝子や、動物の精子変態過程に関わる遺伝子の相同遺伝子が多数含まれることを明らかにした。さらに、鞭毛構成蛋白質の遺伝子が精細胞で一過的に発現し、その後に、精細胞核の凝集に関与すると考えられるプロタミン様蛋白質をコードするMpPROTAMINE-LIKE遺伝子が発現することを見いだした。このように、造精器と精子の分化過程に関わる遺伝子の候補を多数同定するとともに、これらの過程における遺伝子発現の大まかな枠組みを明らかにしたことは、今後の研究の基礎を築いたという点から高く評価できる。

申請者は次いで、自身が同定した造精器で高発現する転写因子遺伝子のうちで、シロイヌナズナの精細胞分化に重要なDUO POLLEN1 (DUO1) のオルソログであるMpDUO1に着目して、発現と機能の解析をおこなった。その結果、MpDUO1は精細胞の分化の前後で特異的に発現することを明らかにした。MpDUO1ノックアウト株 (Mpduo1-1^{ko}株) の精細胞の透過型電子顕微鏡観察とFeulgen染色による核形態の解析から、MpDUO1が精細胞のスプラインや鞭毛の構築、精細胞核の凝集に関わることを示した。また、MpDUO1が、DUO1と同様に、転写因子DAZ (MpDAZ) の発現を制御することを示した。一方で、シロイヌナズナのduo1変異体とは異なり、Mpduo1-1^{ko}株では、精母細胞の等分裂による精細胞の形成は正常に起こり、精細胞の卵への接着と融合に関わる遺伝子の発現は顕著には低下しないという差異を見いだした。以上から、申請者は、DUO1は、苔類ゼニゴケおよび被子植物のシロイヌナズナにおいて精細胞の分化前後に発現し、精細胞の分化に必須であるという共通点を持つが、DUO1の下流に位置づけられる諸経路は、進化の過程で変化してきたと結論づけた。この研究は、DUO1が広く陸上植物の雄性配偶子形成に重要な役割を持つ転写因子であることを明らかにした研究として高く評価できる。

本論文では、申請者の植物生命科学に関する高度で幅広い学識と優れた研究能力により、独創的かつ総合的に精緻な研究が展開されており、生命科学の理解と発展に寄与する発見が論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成28年1月25日に、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日